한국인 제2형 당뇨병 환자에서 글루카곤 유사 펩타이드-1 수용체 유전자 다형성

인하대학교 의과대학 내과학교실, 인하대학교 대학원 의학과[1],
서울대학교 의과대학 내과학교실[2], 연세대학교 의과대학 내과학교실[3]

이경욱·강미화[1]·박선희[1]·김은아·홍성빈·남문석·김용성·박경수[2]·이현철[3]

Genetic Polymorphism of Glucagon-Like Peptide 1 Receptor in Korean Type 2 Diabetes Mellitus

Kyung Wook Lee, Meihua Jiang[1], Shanji Piao[1], Eun A Kim, Seong Bin Hong, Moon Suk Nam, Yong Seong Kim, Kyong Soo Park[2], and Hyun Chul Lee[3]

Department of Internal Medicine, College of Medicine, The Graduate School[1], Inha University, Incheon, Department of Internal Medicine[2], Seoul National University School of Medicine, Department of Internal Medicine[3], Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

- Abstract -

Background: Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) is a hormone secreted by intestinal L-cells, which stimulates insulin secretion from β cells. The biological action of GLP-1 is mediated by the glucagon-like peptide-1 receptor (GLP-1R), which is 463 amino acids in size, with 7 transmembrane domains. Because GLP-1 plays an important modulatory role in regulating glucose-stimulated insulin, the GLP-1R could be a candidate gene contributing to impaired β-cell function and the development of this genetically heterogeneous disorder. Recently, four GLP-1R SNPs were identified in Caucasian diabetic individuals, and for the SNP at the Leu- 260Phe (A/C) position, statistically significant differences were detected in the distribution of genotypes between type 2 diabetic and nondiabetic subjects. We replicated the genetic association between the SNP at the leu260Phe (A/C) position in the GLP-1R gene and Korean type 2 diabetes mellitus.

Methods: The Leu260Phe polymorphism in the GLP-1R gene was determined using a PCR-RFLP method (the genotypes were determined according to the results of polymerase chain reaction products after digestion and the digestive enzyme was *BbsI*) in 419 Korean type 2 diabetic patients and 345 nondiabetic subjects.

Results: In contrast to the Caucasian report, there was no significant difference in the frequencies of alleles, and genotypes between Korean type 2 diabetic and nondiabetic subjects. When analyzed according to gender, BMI and age of onset, the genotype distribution of type 2 diabetic subjects was not significantly different from nondiabetic subjects.

Conclusion: The Leu260Phe polymorphism in the GLP-1R gene was not associated with type 2 diabetes mellitus, and we were unable to replicate the genetic association between this polymorphism and Korean type 2 diabetes mellitus **(J Kor Diabetes Assoc 29:30 ~ 38, 2005).**

Key Words: Type 2 diabetes mellitus, Glucagon-like peptide 1 receptor, Single nucleotide polymorphism

접수일자: 2004년 11월 13일, 통과일자: 2004년 12월 31일, 책임저자: 남문석, 인하대학교 의과대학 내과학교실

* 본 논문은 2003년도 인하대학교의 지원에 의하여 연구되었음(INHA-30313).

서 론

글루카곤 유사 펩타이드-1 (Glucagon-like peptide-1, 이하 GLP-1)은 preproglucagon으로부터 유도된 호르몬으로, 식사나 경구 당 투여 후 장점막의 L 세포에서 분비된다[1]. 경구 섭취와 췌장 호르몬 분비 촉진과의 고리를 잇는 소위 장-인슐린 축(enteroinsular axis)을 구성하는 대표적인 인크레틴(incretin) 호르몬으로 주로 췌장의 베타세포에서 인슐린 생성[2]과 분비의 조절인자로 작용하며[3], 글루카곤 분비도 억제하여 인슐린 작용을 증강시키는 역할을 한다[4]. 그밖에도 중추신경계에 작용하여 포만감을 증가시켜 음식섭취를 줄이고[5], 지연된 위배출시간을 호전시키며[6], 일부 연구에서는 췌장 베타세포의 신생(neogenesis)을 자극한다는 결과들도 보고되었다[7,8]. GLP-1은 글루카곤 유사 펩타이드-1 수용체(Glucagon-like peptide1 receptor, 이하 GLP-1R)를 통해서 생물학적 작용을 나타내는데, 1992년 Thorens 등[9]에 의해서 COS 세포주를 이용한 췌장 소도 cDNA 발현 상태에서 GLP-1R cDNA를 분리하였다. GLP-1R는 6번 염색체에 위치하며[10], 주로 췌장에 존재하고 그밖에 뇌, 신장, 심장, 폐, 골격근, 간, 소화관 조직에도 유전자가 발현된다고 알려져 있다[11].

제2형 당뇨병은 베타세포 기능의 소실[12]과 말초조직에서의 인슐린저항성[13]을 병인으로 하는 질환으로 다양한 여러 유전자가 환경적 인자들과 함께 작용하여 유발된다[14]. GLP-1이 포도당 유도성 인슐린 분비의 강력한 자극제이며, 포도당에 저항성을 보이는 췌장 베타세포에 GLP-1을 주입할 경우 베타세포의 기능이 향상되므로[15], 베타세포에 존재하는 GLP-1 수용체의 결함이 제2형 당뇨병 환자에서 동반되는 인슐린 분비 감소를 가져 올 수 있다는 가정 하에 당뇨병 후보 유전자로 연구 되어왔다. 하지만 1990년대 초반의 연구들은 GLP-1 수용체 유전자는 당뇨병과 관련이 없다는 보고가 많았다[16,17]. 그러나 최근에 GLP-1이 치료제로 개발되었을 뿐만 아니라, GLP-1 수용체의 agonist인 exendin-4의 합성 형태인 exenatide가 개발되어 당뇨병 환자에게 투여할 경우, 당화 혈색소를 떨어뜨리는 효과가 발표되면서[18] GLP-1의 중요성이 새로이 부각되었다. 최근에 일본인과 코카시안 인종에서 GLP-1R 유전자의 단일 염기 다형성(single nucleotide polymorphism)이 보고되었고, 이중 exon 7에 위치한 Leu 260Phe이 일본인 자료에서는 의미가 없었으나[19], 코카시언 인종에서는 정상 대조군과 비교하여 유의한 차이가 있었다[20]. 따라서 본 연구에서는 한국인의 제2형 당뇨병 환자에서 GLP-1R 유전자의 exon 7에 위치한 단일유전자 다형성이 정상 대조군과 차이가 있는지를 백인에서의 자료와 비교 관찰하였다.

대상 및 방법

1. 대상

정상 대조군은 다음의 조건이 만족되는 경우에 한하여 EDTA tube에 전혈 5cc씩 채혈을 한 후 섭씨 4°C에 냉장 보관하였다. 포함되는 조건은 나이는 60세 이상으로, 3세대에 걸쳐 당뇨병이 없고, 공복 혈당이 110 mg/dL 미만이거나, 무작위 혈당이 140 mg/dL 미만으로 하였다. 제2형 당뇨병에 대한 가족력의 유무는 개별면담을 통해서 3세대에 이르는 가계도(pedigree)를 작성하였다.

한국인 제2형 당뇨병 환자군은 인하의대 부속병원 내분비 내과를 방문한 환자를 대상으로, 이미 당뇨병에 대한 치료를 받고 있거나, 세계 보건 기구의 당뇨병 진단 기준에 부합되는 사람을 무작위로 추출하였다. GAD 항체 양성인 환자는 제외하였고, 알코올, 수술, 약물, 간과 췌장 질환 등으

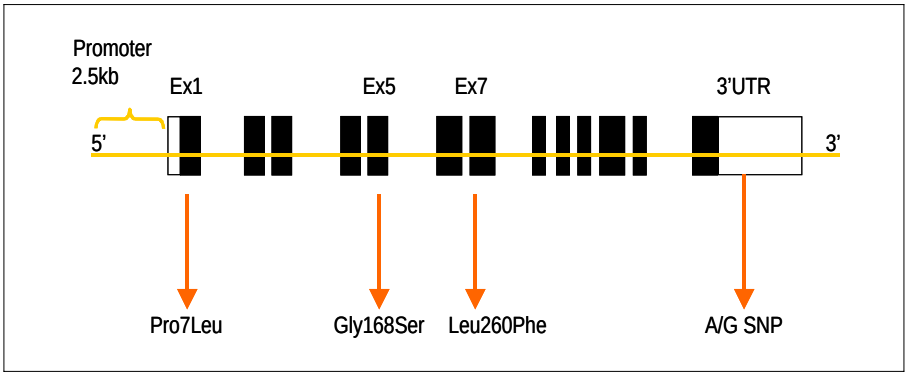

Fig. 1. Organization of Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Gene.
Schema of genomic structure and polymorphic variants of the glucagon-like peptide 1 receptor. Filled and open boxes indicate protein-coding regions and untranslated regions respectively. Introns and flanking sequences are expressed as lines connecting the boxes. Arrows point to the positions of the polymorphic variants identified.

Table 1. Clinical Characteristics of Korean Subjects

	Non-diabetes (n = 345)	Diabetes (n = 419)	*P*
Sex (M : F)	157 : 187	191 : 226	ns
Age (years)	63 ± 6	52 ± 11	$P < 0.05$
BMI (kg/m^2)	23.62 ± 2.94	24.55 ± 3.91	$P < 0.05$
HbA_{1C} (%)		8.07 ± 1.70	
HOMA-IR		4.36 ± 5.20	
Systolic blood Pressure (mmHg)	130 ± 18	1.30 ± 22	ns
Diastolic blood pressure (mmHg)	80 ± 11	79 ± 13	ns
Fasting blood glucose (mmol/L)	5.24 ± 0.49	7.95 ± 2.29	$P < 0.05$
Cholesterol (mmol/L)	5.01 ± 0.84	5.14 ± 1.11	ns
Triglyceride (mmol/L)	1.38 ± 0.64	1.94 ± 1.17	$P < 0.05$
HDL-cholesterol (mmol/L)	12.06 ± 3.19	11.39 ± 4.29	$P < 0.05$
LDL-cholestetol (mmol/L)	3.14 ± 0.82	3.14 ± 0.94	ns

Data are mean ± SD. ns ; non-significant.
HOMA-IR, homeostasis model assessment for insulin resistance.

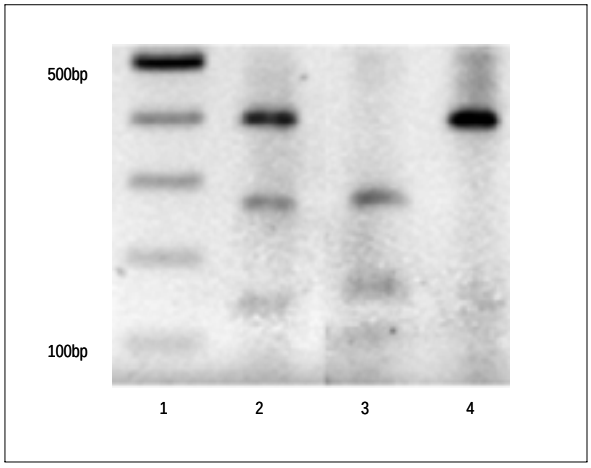

Fig. 2. PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism of the GLP-1 Receptor exon 7 Leu260Phe (A/C). The expected product sizes are: the normal homozygote, 398 bp; the A260C heterozygote, 398, 235, and 163 bp; and the A260C homozygote, 235, and 163 bp, respectively. lane 1, molecular size marker (100bp); lane 2, heterozygote (A/C); lane 3, A260C variant type homozygote (C/C); lane 4, wild type homozygote (A/A)

로 인한 2차성 당뇨병은 제외하였다. 본 연구에 포함된 환자군 및 대조군은 토종 한국인(full Korean ethnicity)이며 환자군이나 대조군내의 혈연 관계는 없었다. 본 연구는 정상 대조군 345명(345; 남: 157명, 여: 187명)과 제2형 당뇨병 환자 419명(419; 남: 191명, 여: 226명)을 대상으로 하였고 연구 내용에 대해서 충분히 설명을 한 후 환자의 동의서를 받았다.

2. 방법

1) 신체계측 및 혈액검사

당뇨병 환자군 및 정상 대조군으로부터 혈압, 키, 몸무게를 측정하였으며, 공복혈장 포도당 및 총 콜레스테롤, 중성지방 및 고밀도 지단백(HDL) 콜레스테롤 농도를 측정하였다. 한편 당뇨병 환자군에서는 공복 인슐린 농도 및 당화 혈색소를 측정하였고 공복혈장 포도당 농도와 공복혈장 인슐린 농도로부터 homeostasis model assessment 인슐린저항성 지표[21](HOMA-IR)을 계산하였다.

HOMA IR = [fasting insulin (μIU/mL) fasting glucose (mmol/ L)]/22.5

2) GLP-1R의 유전자 구조와 유전자 단일 염기변이 조사 (Fig. 1)

3) GLP-1R 유전자 Leu260Phe 단일 염기 변이

Nagase 등[20]으로부터 백인에서의 GLP-1R 유전자의 직접 염기 서열 분석을 통하여 얻은 4군데의 단일 염기 다형성 부위에 대한 자료를 제공받았다.

제공받은 백인에서의 GLP-1R 유전자의 단일염기서열 다형성 중에서 제2형 당뇨병 환자군에서 연관성이 있는 부위인 Leu260Phe 단일 염기 변이에 대한 조사를 하였다.

말초 백혈구로부터 정상 대조군 345명과 당뇨 환자군 419명의 genomic DNA를 분리한 후, 정방향 시발체(forward primer, 5'-CAGATAAAGTCCTTAGCACTAGCCC-3')

와 역방향 시발체(reverse primer, 5'-CAAGTACCAC-CATGTTAGAAGAGGGGTC-3')를 이용하여 중합효소반응을 통해 395 염기쌍(bp)으로 증폭시켰다 중합효소반응은 반응 혼합액을 95℃에서 5분간 가열한 후 61℃에서 30초, 72℃에서 1분 가열하는 것을 한 주기로 하여 35주기 반복하여 DNA를 증폭하고 마지막 연장은 72℃에서 10분간 유지하였다. 그리고 GLP1R 유전자의 Leu260Phe 단일 염기 유전적 변이를 확인하기 위해 제한효소 절편 길이 다형성(restriction fragment length polymorphism)을 시행하였다. 즉 증폭된 DNA를 *BbsI*(New England Biolabs, USA) 제한효소로 60℃에서 60분간 반응시키고, 2% agarose gel에 전기영동을 한 뒤 ethidium bromide로 발색한 후, 자외선 램프로 절편길이를 관찰하였다. *BbsI* 효소는 395 염기쌍의 274번의 nucleotide가 A에서 C로 치환될 때만 증폭된 DNA를 자르게 된다. 만일 395 염기쌍의 띠 하나만 관찰된다면 돌연변이가 없는 동형접합체(A/A)이고, 266 염기쌍, 129 염기쌍의 띠 두 개가 관찰되면 Leu260Phe에 대한 동형접합체(C/C)가 되며, 395 염기쌍, 266 염기쌍, 129 염기쌍의 3개의 띠가 나타나면 이형접합체(A/C)로 판정하였다(Fig. 2).

3. 통계

SPSS (version 10.0) 프로그램을 이용하여 통계학적 분석을 시행하였다. 데이터는 평균표준편차로 표시하였다. 각 자료간의 유전적 연관성 분석은 chi-square test를 이용하였으며, *P*값이 0.05 미만인 경우 통계학적으로 유의한 것으로 정의하였다.

결 과

1. 대상의 임상적 특징

당뇨병 환자군은 419명, 정상 대조군은 345명으로 남녀비는 두 군간에 차이가 없었다. 평균 나이는 당뇨병 환자군은 52 ± 11세, 정상 대조군은 63 ± 6세였으며, 당뇨병 환자군의 평균 당화 혈색소는 8.07 ± 1.70%였다. 체질량 지수는 당뇨병 환자군에서 24.55 ± 3.91 kg/m^2, 정상 대조군은 23.62 ± 2.94 kg/m^{2}로 당뇨병 환자군에서 높았으며, 양 군간의 혈압의 차이는 없었다. 중성 지방은 당뇨병 환자군에서 1.94 ± 1.17 mmol/L, 정상 대조군은 1.38 ± 0.64 mmol/L로 당뇨병 환자군에서 높았으며, 고밀도 지단백 콜레스테롤은 당뇨병 환자군에서 11.39 ± 4.29 mmol/L, 정상 대조군에서 12.06 ± 3.19 mmol/L로 당뇨병 환자군에서 통계학적으로 유의하게 낮았다(Table 1). 한편 당뇨병 환자의 치료방법은 4.2% (7명)의 환자에서 식사요법 및 운동으로 조절하였고, 64.1% (259명)의 환자에서 경구 혈당 강하제를 복용하였으며, 나머지 31.7% (128명)의 환자에서는 인슐린을 사용하였다.

2. GLP-1R 유전자의 Leu260Phe 단일 유전자 다형성과 당뇨병과의 연관성

한국인에서 GLP-1R 유전자의 Leu260Phe 유전자형의 빈도 및 대립 유전자의 빈도는 제2형 당뇨병 환자군과 정상 대조군에서 통계학적으로 유의한 차이는 없었다(*P* = 0.32, *P* = 0.41, Table 2).

3. GLP-1R 유전자의 Leu260Phe 단일 유전자 다형성과 성별 및 체질량 지수에 따른 당뇨병과의 연관성

GLP-1R 유전자의 Leu260Phe 유전자형을 남자 당뇨군, 정상 남자군, 여자 당뇨군, 정상 여자군으로 나누어 비교하였을 때 통계학적으로 의미 있는 차이는 없었다(Table 3).

또한 GLP-1R 유전자의 Leu260Phe 유전자형을 제 2형 당뇨병 환자의 체질량 지수에 따라 BMI<25 kg/m^{2}인 군과 BMI 25 kg/m^{2}인 군으로 나누어 정상 대조군과 비교하였을 경우 통계학적인 의미 있는 차이는 없었다(Table 3).

한편 제2형 남자 당뇨병 환자군을 체질량 지수에 따라 BMI < 25 kg/m^{2}인 군과 BMI 25 kg/m^{2}인 군으로 분류하여 정상 남자군과 비교하였을 때 통계학적인 차이는 없었으며, 제2형 여자 당뇨병 환자군도 체질량 지수에 따라 분류한 후 정상 여자군과 비교했을 때 의미있는 차이는 없었다(data not shown).

4. GLP-1R 유전자의 Leu260Phe 단일 유전자 다형성과 당뇨병 발병 연령과의 연관성

GLP-1R 유전자의 Leu260Phe 유전자형을 40세 미만에

Table 2. Comparison of Allelic and Genotypic Distribution of GLP-1 Receptor Leu260Phe Polymorphism

Subjects	Genotypes [n (%)]			*P*	Alleles [n (%)]		*P*
	A/A	A/C	C/C		A	C	
Korean diabetes	113 (27.0)	200 (47.7)	106 (25.3)	0.32	427 (51.0)	411 (49.0)	0.41
Korean non-diabetes	78 (22.6)	181 (52.5)	86 (24.9)		337 (48.8)	353 (51.2)	

Chi-square test was used for the statistical analysis.

Table 3. Distribution of Leu260Phe Genotype Frequencies of GLP-1 Receptor according to Sex and BMI of Diabetic Subjects

Subjects	Genotypes [n (%)]			*P*
	A/A	A/C	C/C	
Male diabetes	52 (27.2)	86 (45.0)	53 (27.7)	0.14
Male non-diabetes	37 (23.6)	87 (55.4)	33 (21.0)	
Female diabetes	61 (27.0)	113 (50.0)	52 (23.0)	0.33
Female non-diabetes	41 (21.9)	93 (49.7)	53 (28.3)	
BMI<25 kg/m^2 diabetes	68 (28.9)	106 (45.1)	61 (26.0)	0.14
BMI≥25 kg/m^2 diabetes	41 (23.7)	89 (51.4)	43 (24.9)	0.95
Non-diabetes	78 (22.5)	182 (52.6)	86 (24.9)	

Chi-square test was used for the statistical analysis.
Significance (p-value) for genotype frequency differences in type 2 diabetic patients versus nondiabetic subjects.

Table 4. GLP-1 Receptor Leu260Phe Genotype Frequencies according to the Onset Age of Diabetic Subjects

Subjects	Genotypes [n (%)]			*P*
	A/A	A/C	C/C	
Onset <40 years diabetes	29 (24.4)	61 (51.3)	29 (24.4)	0.76
Onset ≥40 years diabetes	83 (28.3)	135 (46.1)	75 (25.6)	0.76
Non-diabetes	78 (22.6)	181 (52.5)	86 (24.9)	

Chi-square test was used for the statistical analysis.
Significance (p-value) for genotype frequency differences in type 2 diabetic patients versus nondiabetic subjects.

발병한 경우, 40세 이상에 발병한 경우로 나누어 정상 대조군과 비교하였을 때 통계학적으로 의미 있는 차이는 없었다 (Table 4).

5. GLP-1R 유전자의 Leu260Phe 단일 유전자 다형성과 당뇨병 치료 형태와의 연관성 및 유전자 형태에 따른 임상적인 특징

GLP-1R 유전자의 Leu260Phe 유전자형을 진단 당시의 치료형태로 나누어, 식사요법 및 운동요법으로 치료한 군, 경구 혈당 강하제로 치료한 군, 인슐린으로 치료한 군으로 나누어 비교하였을 때 통계학적인 차이는 없었다 (data not shown). 그리고 GLP-1R 유전자의 exon 7에 위치한 Leu 260Phe 유전자형에 따른 당뇨병 환자군의 임상적인 차이를 보았을 때 통계학적으로 의미있는 특성은 관찰할 수 없었다 (data not shown).

고 찰

본 연구 결과, 한국인 제2형 당뇨병 환자에서 GLP- 1R 유전자의 Leu260Phe 단일 염기 다형성은 당뇨병의 발병과 관련이 없는 결과를 관찰하였다.

GLP-1은 췌장의 소화효소 분비를 촉진하는 엑스크레틴 (excretin)에 대비하여 인크레틴 (incretin)으로 표현하며, 제 2형 당뇨병 환자에서 인크레틴 효과는 정상인에 비하여 감소되어 있거나 소실되어 있다[22]. GLP1과 같은 인크레틴의 작용 소실이 당뇨병을 유발시키는 중요한 원인으로 작용할 수 있으며, GLP-1이나 GLP-1R의 결함이 인크레틴의 작용 소실에 관여할 것으로 생각된다. GLP-1R는 463개의 아미노산으로 이루어져 있고, 세포막을 7번 지나는 G-단백질 연관 수용체의 한 종류로, 같은 계열의 세크레틴 수용체, 부갑상선 호르몬 수용체, 칼시토닌 수용체와 구조적인 유사성을 가지고 있다[1].

GLP-1R의 변이는 인슐린 분비의 감소와 포도당에 대한 췌장 베타세포의 저항성을 특징으로 하는 glucokinase 변이를 가진 당뇨병 환자와 유사한 표현형(phenotype)이 나타날 것으로 기대되고, 조직 적합성 항원 (major histocompatibility complex)이 위치한 6번 염색체에 존재하므로[10] 제2형 당뇨병의 후보 유전자로 연구되어 왔다. 그러나 초기의 아프리카 미국인 환자[16]들이나 일본인[17]을 대상으로 연관분석 (linkage analysis)을 이용한 GLP-1R 유전자 연구에서는 당뇨병의 발병과 관련이 없는 결과들이 발표되었다. 하지만, 1996년 Scrocchi 등[23]이 유전자 조작을 통해서 GLP-1R가

없는 쥐(GLP-1R knockout mice)에게 경구 당부하 검사를 하였을 경우, 내당능 장애가 유발되고, 30분에서 120분에 걸쳐 인슐린의 농도가 감소하는 것을 관찰하였고, GLP-1이 치료 약제로 개발되어 제2형 당뇨병 환자에게 투여했을 때, 인슐린 분비의 초기 반응이 회복되어 식후 혈당 상승을 억제하는 효과가 보고되면서[24] GLP-1의 임상적 의의가 재평가를 받았다. 따라서 Nagase 등[20]은 후보 유전자 접근법을 통해 GLP-1R 유전자의 직접염기서열 분석을 통하여 네 곳에서 단일 염기 다형성 부위를 찾은 뒤, 백인 제2형 당뇨병 환자 389명과 정상 대조군 313명을 대상으로 유전자형 및 대립유전자의 빈도를 보았고, 이 중 exon 7의 Leu260Phe이 제2형 당뇨병 환자에서 통계학적으로 의미 있게 증가하는 것을 관찰하였다(P = 0.02). 본 연구는 GLP-1R 유전자의 exon 7에 위치한 Leu 260Phe 단일 염기 다형성이 한국인 제2형 당뇨병 환자에서도 의미가 있는지를 조사하고, 백인에서의 자료와 비교해 보았다. 하지만 백인에서의 결과와는 다르게 한국인 제2형 당뇨병 환자에서 Leu260Phe의 유전자형의 빈도 및 대립 유전자의 빈도는 정상 대조군과 비교해서 차이가 없었다(P = 0.41). 최근 일본인에서 GLP-1R 유전자의 단일 염기 다형성 부위가 Leu260 Phe을 포함하여 4부위에서 보고되었고, 발견된 부위 모두 제2형 당뇨병과는 관련이 없는 것으로 발표되었다[19]. 지금까지의 결과를 고려해 본다면 GLP-1R 유전자의 Leu260 Phe 단일 염기 다형성은 백인에서와 달리 한국인이나 일본인과 같은 동양인에서는 관련이 없을 것으로 생각된다. 현재까지 발견된 제2형 당뇨병과 관련된 후보 유전자들은 다른 인종에서 반복적으로 확인이 되지 않는 문제점을 안고 있다. 예로 calpain10 유전자 다형성[25~27]이나 PPARγ Pro12Ala유전자[28~30]에서 당뇨병과의 관련성은 인종보다 다르게 보고되며, 아디포넥틴 유전자는 프랑스[32], 독일[33], 미국[34]을 포함한 백인이나 일본인[35]에서 모두 제2형 당뇨병과 관련되지만, 의미있는 단일 염기 다형성 부위는 인종간에 각각 달랐다. 이러한 현상은 인종마다 제2형 당뇨병의 유전적 감수성 부위(genetic susceptibility locus)가 놓인 대립 유전자의 구조나 그 부위의 지리적인 구조의 차이로 생각하고 있다[36]. 또한 제2형 당뇨병이 유전적인 소인뿐만 아니라 환경적인 요소도 관련되므로 인종마다 다른 환경에 노출되면서 당뇨병 발병 유전자의 영향력의 크기가 변하기 때문으로도 추측하고 있다[37]. 본 연구에서는 Leu260Phe 유전자 다형성이 당뇨병 환자의 성별이나 체질량 지수, 당뇨병 발생 나이에 따라 정상 대조군과 차이가 있는지를 보았지만, 통계학적으로 아무런 차이를 보이지 않았다. 비록 Leu260Phe 한 부위의 유전자 다형성과 임상적인 지표들과는 아무런 관련이 없는 것으로 나왔지만, GLP-1R 유전자 내에 연관 불균형 상태의 유전자 다형성이 놓인 대립 유전자에 따라 임상적인 지표를 보았다면, 다른 결과가 나올 수 있을 것으로 생각된다.

이번 연구에서는 한국인에서 GLP-1R 유전자의 단일 염기 다형성이 제2형 당뇨병과 관련되지 않은 것으로 나왔지만, 제2형 당뇨병이 다양한 유전자의 변이 및 환경적인 요소가 복합적으로 작용하여 발생되는 질환임을 고려할 때, 다른 종류의 유전자의 변이가 동반될 경우(gene to gene interaction), 한국인에서 GLP1R 유전자가 당뇨병에 미치는 효과는 다시 고려 될 수 있으며, 향후 이러한 연구가 필요하리라 생각된다.

결론적으로, 본 연구에서 한국인 제2형 당뇨병 환자에서 GLP-1R 유전자의 Leu260Phe 단일 염기 다형성은 당뇨병과 연관성이 없는 것으로 생각되며, 당뇨병의 발병 나이, 성별, 체질량 지수, 당뇨병의 치료방법에 따른 차이도 없는 것으로 생각된다.

요 약

연구배경: 글루카곤 유사 펩타이드-1 (Glucagon-like peptide-1, 이하 GLP-1)은 식사나 경구 당 투여 후 장점막의 L 세포에서 분비하는 호르몬으로, 주로 췌장의 베타세포에서 인슐린 생성과 분비의 조절인자로 작용한다. GLP-1은 글루카곤 유사 펩타아드 수용체(Glucagon-like peptide-1 receptor, 이하 GLP-1R)를 통해서 생물학적 작용을 나타낸다. 제2형 당뇨병은 췌장 베타 세포 기능의 저하와 말초조직에서의 인슐린저항성을 병인으로 하는 만성질환으로 다양한 유전적 인자가 환경적 요소들과 함께 작용하여 유발되는 것으로 여겨지고 있다. GLP-1이 포도당 유도성 인슐린 분비의 강력한 자극제이며, 제2형 당뇨병 환자의 대부분이 인슐린 분비가 감소되어 있으므로, GLP-1R는 당뇨병을 유발하는 후보 유전자로 연구되어 왔다. 최근 코카시안 인종에서 GLP-1R의 유전자 다형성이 보고되었는데, 이중 exon 7의 Leu260Phe이 정상 대조군과 비교하여 제2형 당뇨병 환자에서 유의하게 높은 것으로 보고되었다.

한국인의 제2형 당뇨병 환자에서도 GLP-1R의 유전자 다형성을 조사한 후 백인에서의 자료와 비교 관찰하였다.

방법: 419명의 한국인 제2형 당뇨병 환자(419명; 남: 191, 여: 226)와 345명의 정상 대조군(345명; 남: 157, 여: 187)을 대상으로 하였다. GLP-1R의 단일 염기 다형성은 백인에서의 보고에 따라서 의미있는 부위인 Leu260Phe에 대해서 유전자 증폭 및 제한효소 *BbsI*를 이용한 절편길이 다형성(RFLP) 비교를 통하여 유전자형을 관찰하였다.

결과: GLP-1R의 exon 7에 위치한 Leu260Phe의 대립 유전자 및 유전자형의 빈도는 백인에서의 결과와는 다르게, 한국인의 경우 정상 대조군과 제2형 당뇨병 환자에서 통계학적으로 유의한 차이는 없었다. 또한 당뇨병 환자를 성별, 체질량 지수(BMI < 25 kg/m^2, ≥ 25 kg/m^2), 당뇨병 발생 나이(< 40세, ≥ 40세)로 분류하여 정상 대조군과 비교하였

을 때도 의미 있는 차이는 없었다. 유전자형에 따른 당뇨병 환자군의 임상적 차이점도 발견할 수 없었다.

결론: 한국인 제2형 당뇨병 환자에서 GLP-1R 유전자의 Leu260Phe 단일 염기 다형성은 당뇨병과의 연관성을 찾을 수 없었으며, 유전자형에 따른 임상적 특성에서도 차이가 없었다.

감사의 글

자료를 제공해주신 일본 동경 자위대 부속병원 내과 Nagase T 선생님에게 감사를 드리며, 대조군 자료를 도와주신 서울의대 박경수 교수님에게도 감사를 드립니다.

참 고 문 헌

1. Ørskov C: *Glucagon-like peptide-1, a new hormone of the entero-insular axis. Diabetologia 35:701-11, 1992*
2. Xu G, Stoffers DA, Habener JF, Bonner-Weir S: *Exendin-4 stimulates both beta-cell replication and neogenesis, resulting in increased beta-cell mass and improved glucose tolerance in diabetic rats. Diabetes 48:2270-6, 1999*
3. Kreymann B, Ghatei MA, Williams G, Bloom SR: *Glucagon-like peptide-1(7-36): a physiological incretin in man. Lancet 2:1300-4, 1987*
4. Komatsu R, Matsuyama T, Namba M, Watanabe N, Itoh H, Kono N, Tarui S: *Glucagonostatic and insulinotropic action of glucagonlike peptide I-(7-36)-amide. Diabetes 38:902-5, 1989*
5. Turton MD, OShea D, Gunn I, Beak SA, Edwards CMB, Meeran K, Choi SJ, Taylor GM, Heath MM, Lambert PD, Wilding JPH, Smith DM, Ghatei MA, Herbert J, Bloom SR: *A role for glucagon-like peptide 1 in the central regulation of feeding. Nature 379:69-72, 1996*
6. Wettergren A, Schjoldager B, Mortensen PE, Myhre J, Christiansen J, Holst JJ: *Truncated GLP-1 (proglucagon 78-107-amide) inhibits gastric and pancreatic functions in man. Dig Dis Sci 38:665-73, 1993*
7. Fehmann HC, Habener JF: *Insulinotrophic hormone glucagon-like peptide-I(7-37) stimulation of proinsulin gene expression and proinsulin biosynthesis in insulinoma beta TC-1 cells. Endocrinology 130:159-66, 1992*
8. Edvell A, Lindstrom P: *Initiation of increased pancreatic islet growth in young normoglycemic mice (Umea +/?). Endocrinology 140:778-83, 1999*
9. Thorens B: *Expression cloning of the pancreatic beta cell receptor for the gluco-incretin hormone glucagons-like peptide 1. Proc Natl Acad Sci USA 89: 8641-5, 1992*
10. Stoffel M, Espinosa R 3rd, Le Beau MM, Bell GI: *Human glucagon-like peptide-1 receptor gene. Localization to chromosome band 6p21 by fluorescence in situ hybridization and linkage of a highly polymorphic simple tandem repeat DNA polymorphism to other markers on chromosome 6. Diabetes 42:1215-8, 1993*
11. Campos RV, Lee YC, Drucker DJ: *Divergent tissue specific and developmental expression of receptors for glucagon and glucagon-like peptide1 in the mouse. Endocrinology 134:2156-64, 1994*
12. Porte D Jr: *beta-cells in type II diabetes mellitus. Diabetes 40:166-80, 1991*
13. Martin BC, Warram JH, Krolewski AS, Bergman RN, Soeldner JS, Kahn CR: *Role of glucose and insulin resistance in development of type 2 diabetes mellitus: results of a 25-year follow-up study. Lancet 340:925-9, 1992*
14. Defronzo RA, Bonadonna RC, Ferrannini E: *Pathogenesis of NIDDM. A balanced overview. Diabetes Care 15:318-68, 1992*
15. Holz GG 4th, Kuhtreiber WM, Habener JF: *Pancreatic beta-cells are rendered glucose-competent by the insulinotropic hormone glucagon-like peptide-1(7-37). Nature 361:362-5, 1993*
16. Tanizawa Y, Riggs AC, Elbein SC, Whelan A, Donis-Keller H, Permutt MA: *Human glucagonlike peptide 1 receptor gene in NIDDM. Identification and use of simple sequence repeat polymorphism in genetic analysis. Diabetes 43:752-7, 1994*
17. Yagi T, Nishi S, Hinata S-I, Murakami M, Yoshimi T: *A population association study of four candidate genes (hexokinase II, glucagon-like peptide-1 receptor, fatty acid binding protein-2, and apolipoprotein C-II) with type 2 diabetes and impaired glucose tolerance in Japanese subjects. Diabet Med 13:902-7, 1996*
18. Drucker DJ: *Glucagon-like peptides. Diabetes 47:159-69, 1998*
19. Tokuyama Y, Matsui K, Egashira T, Nozaki O, Ishizuka T, Kanatsuka A: *Five missense mutations in glucagonlike peptide 1 receptor gene in Japanese population. Diabetes Res Clin Pract 66:63-9, 2004*
20. Nagase T, JI L, Leech C, Pezzolesi M, Habener J,

Krolewski A: *Polymorphisms in the GLP-1 receptor gene and susceptibility to type 2 diabetes Mellitus (Abstract). Diabetes 51(Suppl. 1):A254, 2002*

21. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC: *Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. Diabetologia 28:412-9, 1985*
22. Nauck M, Stockmann F, Ebert R, Creutzfeldt W: *Reduced incretin effect in type 2 (non-insulin dependent) diabetes. Diabetologia 29:46-52, 1986*
23. Scrocchi LA, Brown TJ, MaClusky N, Brubaker PL, Auerbach AB, Joyner AL, Drucker DJ: *Glucose intolerance but normal satiety in mice with a null mutation in the glucagon-like peptide 1 receptor gene. Nat Med 2:1254-8, 1996*
24. Todd JF, Edwards CM, Ghatei MA, Mather HM, Bloom SR: *Subcutaneous glucagon-like peptide-1 improves postprandial glycaemic control over a 3-week period in patients with early type 2 diabetes. Clin Sci 95:325-9, 1998*
25. Horikawa Y, Oda N, Cox NJ, Li X, Orho-Melander M, Hara M, Hinokio Y, Lindner TH, Mashima H, Schwarz PE, del Bosque-Plata L, Oda Y, Yoshiuchi I, Colilla S, Polonsky KS, Wei S, Concannon P, Iwasaki N, Schulze J, Baier LJ, Bogardus C, Groop L, Boerwinkle E, Hanis CL, Bell GI: *Genetic variation in the gene encoding calpain-10 is associated with type 2 diabetes mellitus. Nat Genet 26:163-75, 2000*
26. Garant MJ, Kao WH, Brancati F, Coresh J, Rami TM, Hanis CL, Boerwinkle E, Shuldiner AR: *SNP43 of CAPN10 and the risk of type 2 diabetes in AfricanAmericans: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. Diabetes 51:231-7, 2002*
27. Baier LJ, Permana PA, Yang X, Pratley RE, Hanson RL, Shen GQ, Mott D, Knowler WC, Cox NJ, Horikawa Y, Oda N, Bell GI, Bogardus C: *A calpain-10 gene polymotphism is associated with reduiced muscle mRNA levels and insulin resistance. J Clin Invest 106:R69-R73, 2000*
28. Mori H, Ikegami H, Kawaguchi Y, Seino S, Yokoi N, Takeda J, Inoue I, Seino Y, Yasuda K, Hanafusa T, Yamagata K, Awata T, Kadowaki T, Hara K, Yamada N, Gotoda T, Iwasaki N, Iwamoto Y, Sanke T, Nanjo K, Oka Y, Matsutani A, Maeda E, Kasuga M: *The pro12→Ala substitution in PPAR-gamma is associated with resistance to develoment of diabetes in the general population: possible involvement in impairment of insulin secretion in individuals with type 2 diabetes. Diabetes 50:891-4, 2001*
29. Yen CJ, Beamer BA, Negri C, Silver K, Brown KA, Yamall DP, Burns DK, Roth J, Shuldiner AR: *Molecular scanning of the human peroxisome proliferator activated receptor gamma (hPPAR gamma)gene in diabetic Caucasians: identification of a Pro12Ala PPAR gamma2 missense mutation. Biochem Biophys Res Commun 241:270-4, 1997*
30. Ringel J, Engeli S, Distler A, Sharma AM: *Pro12Ala missense mutation of the peroxisome proliferator activated receptor gamma and diabetes mellitus. Biochem Biophys Res Commun 254:450-3, 1999*
31. Oh EY, Min KM, Chung JH, Min YK, Lee MS, Kim KW, Lee MK: *Significance of Pro12Ala mutation in peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 in Korean diabetic and obese subjects. J Clin Endocrinol Metab 85:1801-4, 2000*
32. Vasseur F, Helbecque N, Dina C, Lobbens S, Delannoy V, Gaget S, Boutin P, Vaxillaire M, Lepretre F, Dupont S, Hara K, Clement K, Bihain B, Kadowaki T, Froguel P: *Single nucleotide polymorphisms haplotypes in the both proximal promotor and exon 3 of the APM1 gene modulate adipocyte-secreted adiponectin hormone levels and contribute to the genetic risk for type 2 diabetes in French Caucasians. Hum Mol Genet 11:2607-14, 2002*
33. Stumvoll M, Tschritter O, Fritsche A, Staiger H, Renn W, Weisser M, Machicao F, Haring H: *Association of the T-G polymorphism in adiponectin (exon 2) with obesity and insulin sensitivity: interaction with family history of type 2 diabetes. Diabetes 51:37-41, 2002*
34. Menzaghi C, Ercolino T, Di Paola R, Berg AH, Warram JH, Scherer PE, Trischitta V, Doria A: *A haplotype at the adiponectin locus is associated with obesity and other features of the insulin resistance syndrome. Diabetes 51:2306-12, 2002*
35. Hara K, Boutin P, Mori Y, Tobe K, Dina C, Yasuda K, Yamauchi T, Otabe S, Okada T, Eto K, Kadowaki H, Hagura R, Akanuma Y, Yazaki Y, Nagai R, Taniyama M, Matsubara K, Yoda M, Nakano Y, Tomita M, Kimura S, Ito C, Froguel P, Kadowaki T: *Genetic variation in the gene encoding adiponectin is associated with an increased risk of type 2 diabetes in*

the Japanese population. Diabetes 51:536-40, 2002

36. Fullerton SM, Bartoszewicz A, Ybazeta G, Horikawa Y, Bell GI, Kidd KK, Cox NJ, Hudson RR, Di Rienzo A: *Geographic and haplotype structure of candidate type 2 diabetes susceptibility variants at the calpain-10 locus. Am J Hum Genet 70:1096-106, 2002*
37. Gu HF, Abulaiti A, Ostenson CG, Humphreys K, Wahlestedt C, Brookes AJ, Efendic S: *Single nucleotide polymorphisms in the proximal promoter region of the adiponectin(APM1) gene are associated with type 2 diabetes in Swedish caucasians. Diabetes 53 (Suppl. 1):S31-5, 2004*